

順氣和中湯과 Doxorubicin의 병용이 Colon-26의 항암효과에 미치는 영향

신민규, 김봉석, 오중한, 임희용, 김동우, 최빈혜, 변준석

대구한의대학교 한의과대학 비계내과학교실

The Anti-tumor Effect of *Soonkiwhajungtang* with Doxorubicin in Colon-26

Min Kyu Shin, Bong-Suk Kim, Jung-Han Oh, Hee-Yong Lim,
Dong Woo Kim, Bin-Hye Choi, Joon-Seok Byun

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University, Daegu, Korea

In order to evaluate the anti-tumor and synergic effect of *Soonkiwhajungtang* with doxorubicin, the inhibitory concentration(IC), IC50 and IC90 of single use of doxorubicin and *Soonkiwhajungtang* with their concomitant treatment against Colon-26(Murine Rectum Carcinoma) was observed using MTT(Microculture Tetrazolium test) assay. In addition, their anti-tumor effects were also observed in the xenograft nude mice models against 3LL cell lines.

Soonkiwhajungtang may only mimic direct anti-tumor effects against 3LL cell lines, but signs of worsening induced by implantation of tumor cell lines generally decreased, while the total WBC and lymphocyte numbers increased. Therefore, experimentation suggests that *Soonkiwhajungtang* extracts reduced the critical toxicity of doxorubicin, and that *Soonkiwhajungtang* extracts have favorable synergic effects when combined with doxorubicin.

Key Words: *Soonkiwhajungtang*, doxorubicin, anti-tumor effect, Colon-26

1. 緒 論

암은 현대의학의 발전에도 불구하고 발생률이 세계적으로 증가추세에 있으며, 우리나라에서도 각종 암에 의한 사망이 死因 1위로 보고되고 있다^{1,2}.

양방의 항암화학요법에 사용되는 doxorubicin은 1960년대 개발된 이후 가장 흔히 사용되는 항암제의 일종이며, 암종의 거의 모든 임상 화학요법에 포함되는 약물로 알려져 있다. doxorubicin은 종양이 유발된 환자에 있어서 용량의존성으로 생존률이 증가되지만 이 약물이 가지고 있는 독성문제 때문에 임상 적용 범위가 극히 제한되고 있어 이들의 사용량을 줄이기 위한 다른 약제와의 병용노력이 계속 진행되고 있는 실정이다³.

암에 대한 한의학적 발생원인으로는 外感邪氣, 七情內傷 등의 영향을 받아 痰飲, 濕聚, 氣滯, 血瘀, 熱毒

· 접수 : 2004년 3월 24일 · 채택 : 2004년 4월 19일
· 교신저자 : 변준석, 대구광역시 수성구 상동 165번지 대구한
의대학교 부속 대구한방병원 비계내과
(Tel. 053-770-2113, Fax. 053-770-2169, E-Mail :
jsbyun@dhu.ac.kr)

蘊蓄 등의 病理機轉을 일으키기 때문에 보고 있으며⁵, 治法은 臟腑, 陰陽, 氣血의 虛實에 따라서 扶正培本法과 攻邪法, 그리고 이 두 가지 방법을 동시에 사용하는 扶正祛邪法으로 요약된다⁶. 王⁹, 임 등¹⁰은 항암제 화학요법의 부작용을 감소시키고 치료효과를 증대시키기 위해 扶正培本法과 益氣健脾和胃法을 중요시하였으며, 楊¹¹, 임¹²은 祛邪하되 人體의 正氣를 補益하고 正氣를 損傷시키지 않는 扶正祛邪法을 강조하였다.

順氣和中湯은 《萬病回春》¹³과《東醫寶鑑》¹⁴에 嘔膈反胃의 치료방으로 제시되어 있으며 실험적 연구로는 김 등¹⁵의 소화기 궤양에 대한 연구 이외에는 드문 실정이다.

이에 저자는 본 연구에서 順氣和中湯 추출물 자체의 항암효과를 평가하고, doxorubicin과 順氣和中湯의 병용효과를 관찰하기 위하여 대장암(Colon-26, Murine Rectum Carcinoma)에 대한 MTT(Microculture Tetrazolium test)를 *In Vitro* 적인 방법으로 평가하고, 동시에 종양 세포주를 누드 마우스에 이식한 모델에서 *In Vivo* 적인 방법을 통해 평가하고자 하였다.

II. 材料 및 方法

1. 실험 종양세포주

대장암(Colon-26) 세포주를 Japanese Cancer Research Resource Bank에서 구입하여 사용하였다. 종양 세포주는 일반적인 방법을 통해 해동 후 3회 이상 계대하여 적절한 수인 confluency 80% 이상에 도달시킨 후 사용하였다. 누드 마우스 이식실험에서는 계대한 세포주를 건강한 누드 마우스의 피부에 이식시켜 이식능력을 확인한 후 실험에 사용하였다.

2. 실험동물

140마리의 성숙한 암컷 nude 마우스(6주령, 21-26 body weight upon receipt)를 Charles River Laboratories(Yokohama, Japan)에서 구입하여 사용하였으며, 실험동물은 사료(삼양사, 서울)와 물을 충분

히 공급하면서 실험실 환경에 1주일간 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 실험동물은 온도(20~25℃)와 습도(30~35%)가 조절된 사육실에서 사육하였으며, 환기횟수는 11~12회/hr, 조명은 12hr/day를 유지하였다. 사료는 고품사료를 자유롭게 공급하였으며, 물은 수도수를 자유롭게 공급하였다.

3. 실험군의 구분

1) 시험관내 효력 시험

발육억제농도(Inhibition concentration, IC)를 측정하기 위하여 실험군은 doxorubicin 단독 처리군(Doxo군), 順氣和中湯 추출물 단독 처리군(SKWJ군), doxorubicin 처리 후 50 μ g/ml의 順氣和中湯 추출물 처리군(Mix50군), doxorubicin 처리 후 100 μ g/ml의 順氣和中湯 추출물 처리군(Mix100군) 및 doxorubicin 처리 후 200 μ g/ml의 順氣和中湯 추출물 처리군(Mix200군)의 5개 군으로 구분하여 실험을 실시하였다.

2) 마우스 피하 이식 모델에서의 효력 시험

Colon-26 세포주를 누드 마우스에 이식한 후 항암효과를 평가하기 위하여 이식한 후 멸균된 생리식염수를 10ml/kg을 경구투여한 대조군(Control군) 및 이식 후 doxorubicin(Janvier CERJ, Le Genest-St-isle, France) 5mg/kg을 단독 복강투여한 실험군(Doxo군), 順氣和中湯 100mg/kg을 단독 경구투여한 실험군(SKWJ군), 5mg/kg의 doxorubicin을 복강투여하고 50mg/kg의 順氣和中湯 추출물을 동시에 경구투여한 실험군(Mix50군) 및 5mg/kg의 doxorubicin을 복강투여하고 100mg/kg의 順氣和中湯 추출물을 동시에 경구투여한 실험군(Mix100군)의 5개 군으로 구분하여 실험을 실시하였다. 모든 실험물질의 투여는 10ml/kg의 용량으로 실험동물에 투여하였다.

4. 시험관내 시험에서 효력실험

MTT(Microculture Tetrazolium test)를 사용하였다. 즉, doxorubicin 및 SKWJ 단독 처리군에서는 각각 100 μ g/ml에서부터 0.006 μ g/ml까지 2배씩 희석하여 사용하였으며(15단계), Mix50, Mix100 및 Mix200군에서는 doxorubicin 100 μ g/ml에서부터 0.006 μ g/ml까지 2

Table 1. Composition of "Soonkiwhajungtang" used in this study

藥物名	生藥名	用量(g)
陳皮	Citri Pericarpium	6
香附子	Cyperi Rhizoma	6
梔子	Gardeniae Fructus	6
白茯苓	Poria	4
半夏	Pinelliae Rhizoma	4
白朮	Atractylodis Macrocephalae Rhizoma	4
黃蓮	Coptidis Rhizoma	3
枳實	Aurantii Immaturus Fructus	3
神曲	Massa Medicata Fermentata	2
砂仁	Amomi Fructus	2
甘草	Glycyrrhizae Radix	2
生薑	Zingiberis Rhizoma Recens	6
Total		48g

배식 희석한 후 각각 50, 100 및 200 $\mu\text{g/ml}$ 의 SKWJ 추출물을 첨가하였다. 일반적인 MTT 방법을 통해 억제 농도(Inhibition concentration, IC)를 산출하였다. 즉, 계대 중인 각각의 종양 세포를 1×10^4 cell씩 96 well plate에 분주한 다음 24시간동안 배양한 다음 각각의 후보물질들을 처리한 후 37 $^{\circ}\text{C}$ 의 5% CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 이후 MTT 용액(25 μl of 2g/ml in saline)을 첨가한 후 4시간동안 배양하고 배양액과 용액을 버린 후 crystal violet 염색 후 수세한 다음 plate를 건조시켰다. 이때 배양액은 RPMI medium에 2% sodium bicarbonate와 20 ml / l 의 streptomycin/penicillin을 첨가하여 사용하였고, 모든 후보물질은 멸균 생리식염수에 현탁 또는 용해시켜 사용하였다. 발육 억제농도(IC)의 판정은 흡광도(absorbance; Ab) 값을 측정하여 하기의 공식으로 무처치 대조군에 대한 억제율을 산출하고 positive 억제율이 관찰되는 농도를 IC로 결정하였으며, 얻어진 억제율을 이용하여 linear regression 방법인 Probit 방법으로 무처치 대조군에 비해 50%로 감소된 농도인 IC50과 90%로 감소한 농도인 IC90을 산출하였다. Ab 값은 540nm의 파장에서 ELISA 판독기(Bio-Tek, TV, USA)를 이용하여 측정하였다.

$$\% \text{ of inhibition} = \{ 1 - (\text{mean Ab of test material-treated group} / \text{mean Ab of control group}) \} \times 100$$

5. 順氣和中湯 추출물의 조성 및 추출

1) 順氣和中湯의 조성

본 실험에 사용된 順氣和中湯은 시중(동양한약유통, 서울)에서 매입한 것을 선정하여 《東醫寶鑑》¹³ 및 《圖說漢方診療要方》¹⁶에 기록된 造成을 참고하여 사용하였으며, 1貼 분량의 주요 造成은 Table 1과 같다.

2) 順氣和中湯 추출물의 추출

선정된 약제 10貼 분량(480g)을 취하여 정제수 4000 ml로 가열 추출한 후 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator(N-N type; LAB Camp, Dajeon, Korea)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(PVTFD10A; Ilshin Lab., Seoul, Korea)를 사용하여 동결 건조시켜 1貼 당 9.66g 총 96.58g(수율 20.12%)의 물 추출물을 얻었다.

6. 종양 이식모델의 확립

종양 세포주를 피하 종괴 상태로 계대한 후, 무균 상태에서 절제하고, collagenase type VI과 DNase I (Sigma, USA)를 이용하여 단일 세포 부유액으로 만든 다음 세포 부유액을 만들었다. 이후 적절한 세포의 수(1×10^5 cell/mouse)를 확인한 후, 각 세포주를 마우스의 피하에 이식하였다. 이때 배양액은 RPMI medium에 2% sodium bicarbonate와 20 ml / l 의 streptomycin/penicillin을 첨가하여 사용하였다. 이식 2주 후, 일정한 크기의 종괴가 형성된 실험동물만 선정하여 실험에 사용하였다.

7. 종양이식 동물모델에서 약물의 투여

종양 세포를 이식하고 2주 후, 일정한 크기의 종괴가 형성된 실험동물을 선정하여, Doxo군에서는 5mg/kg의 doxorubicin을 Masse 등¹⁷의 방법에 따라 3일에 한번씩 10 ml/kg의 용량으로 1 ml 멸균 주사기를 이용하여 복강주사로 투여하였고, SKWJ군에서는 종괴 이식 2주 후부터 매일 100mg/kg의 順氣和中湯 추출물을 gastric sonde가 부착된 1 ml 주사기를 이용하여 10 ml/kg으로 경구투여하였다. Mix50 및 Mix100군에서는 각각 5mg/kg의 doxorubicin을 3일에 1회씩 10 ml/kg의 용량으로 투여하는 동시에 50 및 100mg/kg의 順氣和中湯 추출물을 10 ml/kg으로 매일 경구투여하였

다. 대조군에서는 順氣和中湯 투여시와 동일한 방법으로 동일한 양의 생리식염수를 투여하였다. doxorubicin 및 順氣和中湯 추출물은 멸균 생리식염수에 용해 또는 현탁시켜 투여하였다. 약물 및 주사기는 투여 직전 멸균하여 사용하였다.

8. 체중의 변화 측정

모든 실험동물의 체중은 종양 세포주 이식 시와 이식 후 2주에 체중을 측정하였으며, 이와 함께 약물 처리 시작일(Day 0), 약물 처리 후 7, 14, 21, 27 및 희생일(Day 28)에 측정·기록하였으며, 실험 시작시의 개체 차이에 의한 체중변화를 줄이기 위해 일정 기간동안의 체중 변화량인 증체량(body weight gain)을 계산하였다. 즉, 세포주 이식 후 2주간의 증체량, 약물 투여 후 Day 0에서 Day 7, Day 7에서 Day 14, Day 14에서 Day 21, Day 21에서 Day 27 및 실험 전기간(Day 0-Day 28)의 증체량을 계산하였다. 부검 시 사료 섭취에 따른 체중 차이를 줄이기 위하여 최종 부검일에는 18시간 이상 절식을 실시하였다.

9. 사료 섭취량의 변화 측정

모든 실험동물의 사료 섭취량의 변화를 관찰하기 위하여 약물 투여 후 7, 14, 21 및 27일에 개체별로 사료 섭취량을 하기의 공식을 이용하여 측정하였고, 4일간의 총 사료 섭취량을 계산하여 비교하였다.

$$\text{Daily food consumption (g/mouse/day)} = \text{Amounts of food which were supplied to individual cage} - \text{Their remnants that were measured next day.}$$

10. 임상증상의 관찰

모든 실험동물에 대하여 실험기간 중 1일 1회, 일반증상, 이상증상 및 사망유무를 관찰 기록하였으며, 투여기간 중에는 투여 전후 1일 2회 관찰하였다. 관찰된 임상증상은 개체별로 기록하였다. 임상증상은 아래의 5가지로 구분하여 평가하고 기록하였다.

Categories of Clinical Signs :

- 0+ : Not detected 1+ : Slight degrees
- 2+ : Moderated degrees 3+ : Severe degrees

4+ : Very severe degrees

11. 종양증량의 측정

모든 실험동물은 최종 부검일에 ethyl ether로 마취한 후, 피하에 형성된 종양을 적출하여 주위 결합 조직과 피부 조직을 분리·제거하여 습중량(wet weight)을 g단위로 측정하였으며, 체중 차이에 따른 변화를 줄이기 위하여 체중에 대한 습중량의 비율인 상대 중량을 하기의 공식을 이용하여 측정하였다.

$$\text{Relative tumor weights (\%)} = (\text{wet tumor weight / body weight at sacrifice}) \times 100$$

종양의 습중량 및 상대 중량을 이용하여 대조군에 대한 종양 발육억제율(Inhibition rate, IR)을 하기의 공식을 이용하여 각각 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \{1 - (\text{tumor wet or relative weight of test material treated-groups} / \text{tumor wet or relative weight of control})\} \times 100$$

12. 종양체적의 측정

모든 실험동물은 최종 부검일에 ethyl ether로 마취한 후, 피하에 형성된 종양을 적출하여 주위 결합 조직과 피부 조직을 분리·제거한 후, vernier calipers를 이용하여 장경과 단경을 각각 측정·기록하였으며, 측정된 종양의 단경과 장경으로 하기의 공식을 이용하여 종양의 습체적(wet volume)을 mm³ 단위로 계산하였다.

$$\text{Wet tumor volume (mm}^3\text{)} = 1/2 \times a \times b^2$$

a : long axis (mm), b: short axis (mm)

종양의 습체적을 이용하여 대조군에 대한 종양 발육 억제율(Inhibition rate, IR)을 하기의 공식을 이용하여 각각 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \{1 - (\text{tumor wet volume of test material treated-groups} / \text{tumor wet volume of control})\} \times 100$$

13. 혈중 백혈구 총수의 계산

모든 실험동물은 최종 희생일(Day 28)에 모든 실험동물의 복대정맥(Vena cava)에서 1ml의 혈액을 채취한 후 일반적인 방법18에 따라 Turk solution(100ml

Table 2. IC, IC₅₀ and IC₉₀ against Murine Rectum Carcinoma(Colon-26) after doxorubicin, *Soonkiwhajungtang* and their concomitant treatment

Group ID	IC (μg/ml)	IC ₅₀ (μg/ml)	IC ₉₀ (μg/ml)
Doxo	0.037 ± 0.011	0.082 ± 0.007	1.452 ± 0.579
SKWJ	> 100.000	> 100.00	> 100.00
Mix50	0.024 ± 0.010	0.052 ± 0.016**	0.552 ± 0.367**
Mix100	0.010 ± 0.001**	0.025 ± 0.007**	0.117 ± 0.060**
Mix200	0.008 ± 0.002**	0.016 ± 0.008**	0.115 ± 0.074**

Values are Mean ± SD, ** : p < 0.01 compared to that of Doxo by M-W test

의 증류수에 2~5 ml의 빙초산과 1% gentian violet 1 ml이 첨가된 용액)으로 염색한 후 혈구 계산판(counting chamber)과 희석 피펫(diluting pipette)을 이용하여 총 白血球 수를 × 103/mm³ 단위로 계산하였다.

14. 혈중 임파구수의 계산

최종 희생일(Day 28)에 모든 실험동물의 복대정맥에서 1 ml의 혈액을 채취한 후 일반적인 방법18에 따라 혈액도말 표본을 제작하고 Giemsa 염색을 실시한 후 1mm² 면적에 존재하는 淋巴球(lymphocyte)의 수를 자동영상분석장치(Auto-analysis; SIS, Berlin, Germany)를 이용하여 계산·기록하였다.

15. 통계처리

MTT test는 5회 이상 반복하였으며, 모든 수치는 평균 ± 표준편차로 계산하였으며, 대조군과 비교하여 Mann-Whitney Wilcoxon's Rank Sum(M-W) test로 유의성을 검증하였고, IC50과 IC90은 Probit 방법으로 계산하였다. Probit test 및 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 6.1.2, SPSS Inc., USA)를 이용하였다.

III. 結果

1. 시험관내 효력의 변화(MTT In Vitro)

Colon-26에 대한 IC는 Mix100군 및 Mix200군에서 Doxo군에 비해 유의성있게 감소하였다. IC50은 Mix50군, Mix100군, Mix200군에서 doxorubicin 단독 처리군에 비해 유의성있게 감소하였다. IC90은 Mix50군, Mix100군, Mix200군에서 Doxo군에 비해 유의성있게 감소하였다(Table 2).

2. 체중의 변화

Doxo군의 경우 투여 27일 후부터는 대조군에 비해 유의성있는 증가가 관찰되었다. SKWJ군의 경우에서도 투여 14일 후부터 대조군에 비해 유의성있는 증가가 관찰되었으며, 투여 14일과 21일에서는 Doxo군에 비해서도 유의성있는 증가가 인정되었다. Mix50군에서는 투여 7일 후부터 대조군 및 Doxo군에 비해 유의성있는 증가가 관찰되었으며, 투여 27일과 최종 희생일에서는 SKWJ군에 비해서도 유의성있게 증가하였다. Mix100군에서는 투여 7일 후부터 대조군 및 Doxo군에 비해 유의성있는 체중의 증가가 각각 관찰되었으며, 투여 27일과 최종 희생일에서는 SKWJ군에 비해서도 유의성있게 증가하였다(Table 3).

3. 증체량의 변화

Doxo군의 경우 Day 21-27일에 대조군에 비해 유의성있게 증가하였다. SKWJ군의 경우 Day7-14일 및 투여기간의 총 증체량이 대조군에 비해 유의성있게 증가하였으며, Day 0-7, 7-14 및 21-27일에서 Doxo군에 비해 유의성있는 증가가 인정되었다. Mix50군에서는 Day 0-7, 7-14, 21-27 및 총 증체량이 대조군에 비해 유의성있게 증가하였고, Day 0-7, 7-14일에서는 Doxo군에 비해, Day 21-27일 및 총 증체량은 SKWJ군에 비해서도 유의성있게 증가하였다. Mix100군에서는 투여 전 기간에 걸쳐 대조군에 비해 유의성있게 증가하였고, Day 0-7, 7-14일과 총 증체량은 Doxo군에 비해, Day 0-7일 및 총 증체량은 SKWJ군에 비해 유의성있게 증가하였다(Table 4).

Table 3. Changes of body weight after doxorubicin, *Soonkiwhajungtang* and their concomitant treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Control	Doxo	SKWJ	Mix50	Mix100
Day 0 ^a	23.10±1.15	23.14±1.62	23.28±1.36	22.66±1.78	23.26±1.58
Day 7	22.04±1.27	22.14±1.38	23.42±1.64	24.26±1.18* ^{##}	24.56±1.28* [#]
Day 14	21.76±1.42	21.72±1.59	24.30±1.52* ^{##}	25.12±0.91* ^{##}	26.20±1.90* ^{##}
Day 21	21.66±1.56	22.32±0.67	24.72±1.74* [#]	25.90±1.26* ^{##}	27.98±2.63* ^{##}
Day 27	20.82±0.76	23.92±1.06* ^{**}	24.98±1.36* ^{**}	27.76±1.12* ^{**} ^{##} ^{\$\$}	30.12±3.00* ^{**} ^{##} ^{\$\$}
Day 28 ^b	19.94±1.16	22.74±1.65* [*]	22.70±1.20* [*]	25.78±0.90* ^{**} ^{##} ^{\$\$}	27.74±2.53* ^{**} ^{##} ^{\$\$}

Values are Mean±SD (g). Day : days after treatment of test materials, a) : Day at initial dosing; b) Day at sacrifice after about 18hrs of fasting. * : p<0.05 compared to that of Control, ** : p<0.01 compared to that of Control. # : p<0.05 compared to that of Doxo, ## : p<0.01 compared to that of Doxo, \$: p<0.05 compared to that of SKWJ, \$\$: p<0.01 compared to that of SKWJ

Table 4. Changes of body weight gains after doxorubicin, *Soonkiwhajungtang* and their concomitant treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Control	Doxo	SKWJ	Mix50	Mix100
Day 0-7	-1.06±1.09	-1.00±0.80	0.14±0.67 [#]	1.60±1.22* [#]	1.30±0.83* ^{##} ^{\$\$}
Day 7-14	-0.28±0.74	-0.42±0.89	0.88±0.77* [#]	0.86±0.72* [#]	1.64±0.79* [#]
Day 14-21	-0.10±1.11	0.60±0.94	0.42±0.89	0.78±0.86	1.78±1.24* [*]
Day 21-27	-0.84±1.27	1.60±0.67* [*]	0.26±0.45 ^{##}	1.86±0.94* ^{\$\$}	2.14±1.78* [*]
Total ^a	-3.16±1.68	-0.40±2.17	-0.58±0.82* [*]	3.12±2.55* ^{**} ^{##} ^{\$\$}	4.48±2.41* ^{**} ^{##} ^{\$\$}

Values are Mean±SD (g). Day : days after treatment of test materials, a) : Day at initial dosing; b) Day at sacrifice after about 18hrs of fasting. * : p<0.05 compared to that of Control, ** : p<0.01 compared to that of Control. # : p<0.05 compared to that of Doxo, ## : p<0.01 compared to that of Doxo, \$: p<0.05 compared to that of SKWJ, \$\$: p<0.01 compared to that of SKWJ

4. 사료 섭취량의 변화

약물투여 후 7, 14, 21, 27 및 4일간의 사료 섭취량은 SKWJ군의 경우 측정 전 기간에 걸쳐 대조군 및 Doxo군에 비해 유의성있게 증가하였다. Mix50군에서도 측정 전 기간에 걸쳐 대조군과 Doxo군에 비해 유의성있게 증가하였다. Mix100군에서도 대조군 및 Doxo군에 비해 유의성있게 증가하였고, 투여 후 7, 21, 27 및 4일간의 사료 섭취량은 SKWJ군에 비해서도 유의성있게 증가하였다(Table 5).

5. 임상증상의 변화

Colon-26 이식 후 대조군에서는 매우 심한 정도(4+)의 운동실조와 식욕부진이 모든 실험동물(100%)에서 인정되었으며, 심한 정도(3+)의 탈수 증상이 모든 실험동물(100%)에서 인정되었다. Doxo군에서는 중등도 정도(2+)의 운동실조, 심한 정도(3+)의 탈수 증상 및 식욕부진 소견이 모든 실험동물(100%)에서 인정되었다. 그러나 SKWJ군에서는 중등도 정도(2+)의 운동실조와 탈수 증상이 각각 5마리 중 1마리(20%)와 4마리(80%)에서 관찰되었으며, 경도(1+)의

식욕부진이 5마리 중 2마리(40%)에서 인정되었다. Mix50군에서는 중등도 정도(2+)의 운동실조 및 탈수 증상이 각각 5마리 중 4마리(80%)와 3마리(60%)에서 관찰되었으며, 경미한(1+) 식욕부진이 5마리 중 2마리(40%)에서만 국한되어 관찰되었다. Mix100군에서는 경미한(1+) 정도의 운동실조, 탈수 및 식욕부진 소견이 각각 5마리 중 4마리(80%), 2마리(40%) 및 1마리(20%)에 국한되어 관찰되었다(Table 6).

6. 종양 중량의 변화

1) 상대중량의 변화

Colon-26 이식 후 체중에 대한 종양 상대 중량은 Doxo군에서는 대조군에 비해 유의성있게 감소하였다. SKWJ군에서는 대조군과 유사한 종양 상대중량을 나타내었으며, Mix50군과 Mix100군에서는 대조군, SKWJ군뿐만 아니라 Doxo군에 비해서도 모두 유의성있게 감소하였다(Table 7).

2) 상대중량에 대한 성장 억제율

Doxo군에서는 대조군에 비해 57.52±16.02%의 상대중량에 대한 성장 억제율을 나타내었으나, SKWJ

Table 5. Changes of food consumption after doxorubicin, *Soonkiwhajungtang* and their concomitant treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Control	Doxo	SKWJ	Mix50	Mix100
Day 7	2.42±0.91	2.36±0.50	3.52±0.50*.#	3.94±0.21**.##	4.42±0.45**.#\$.S
Day 14	1.80±0.62	1.84±0.46	4.00±0.85**.#\$	4.02±0.27**.#\$	5.02±0.46**.#\$
Day 21	1.70±0.45	1.64±0.48	3.52±0.48**.#\$	4.04±0.70**.#\$	5.18±0.96**.#\$.S
Day 27	1.86±0.35	1.66±0.40	3.30±0.34**.#\$	3.30±0.72*.#	5.66±0.55**.#\$.S\$
Total ^{a)}	7.78±1.16	7.50±0.91	14.34±1.64**.#\$	15.30±1.29**.#\$	20.28±1.09**.#\$.S\$

Values are Mean±SD (g). Day : days after treatment of test materials. a) : Sum of food consumption during 4 times. * : p<0.05 compared to that of Control. ** : p<0.01 compared to that of Control. # : p<0.05 compared to that of Doxo. ## : p<0.01 compared to that of Doxo. \$: p<0.05 compared to that of SKWJ. \$\$: p<0.01 compared to that of SKWJ

Table 6. Clinical signs observed after doxorubicin, *Soonkiwhajungtang* and their concomitant treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Control	Doxo	SKWJ	Mix50	Mix10
No of animala)	5	5	5	5	5
Normal	0	0	0	1	1
% ^{b)}	0	0	0	20	20
Ataxia	5	5	1	4	4
%	100	100	20	80	80
Severity ^{c)}	4+	2+	2+	2+	1+
Dehydration	5	5	4	3	2
%	100	100	80	60	40
Severity	3+	3+	2+	2+	1+
Anorexia	5	5	2	2	1
%	100	100	40	40	20
Severity	4+	3+	1+	1+	1+

a) Total numbers of animal observed, b) Percentage vs total observed animal numbers, c) Severity of Clinical signs divided in to 5 categories

군에서는 -3.34±38.25%의 억제율을 나타내어 SKWJ군은 종양 상대증량에 대해 성장 억제율 나타내지 않는 것으로 관찰되었다. Mix50군에서는 73.44±10.26%의 상대 증량에 대한 억제율이 나타나 Doxo군에 비해 증가된 억제율을 나타내었으나, 유의성은 인정되지 않았다. Mix100군에서는 82.42±4.63%의 종양 상대증량에 대한 성장 억제율이 관찰되어, Doxo군 및 SKWJ군에 비해 유의성있게 증가하였다(Table 7).

7. 종양 체적의 변화

1) 습체적의 변화

Colon-26 이식 후 Doxo군에서는 대조군에 비해 유의성있게 감소하였으나, SKWJ군에서는 대조군과 유사한 종양 체적을 나타내었다. Mix50군과 Mix100군에서는 모두 대조군, Doxo군 및 SKWJ군에 비해 유의성있게 감소하였다(Table 8).

2) 습체적에 대한 성장 억제율

Doxo군, SKWJ군, Mix50군, Mix100군에서의 종양 체적에 대한 성장 억제율은 각각 35.19±14.61%, -9.33±40.94%, 58.37±5.32%, 71.20±8.25%을 나타내어 SKWJ군에서는 종양 체적에 대한 성장 억제율 나타내지 않는 것으로 관찰되었다. Mix50군에서는 Doxo군에 비해 유의성있게 증가하였고, Mix100군에서도 Doxo군에 비해 유의성있게 증가하였다(Table 8).

8. 총 백혈구수의 변화

Colon-26을 이식한 대조군, Doxo군, SKWJ군, Mix50군, Mix100군에서의 총 백혈구수는 Doxo군에서는 대조군에 비해 유의성있는 감소를 나타내었다. SKWJ군에서는 대조군 및 Doxo군에 비해 유의성있게 증가하였다. Mix50군에서는 대조군, Doxo군 및 SKWJ군에 비해 각각 유의성있게 증가하였으며, Mix100군에서도 대조군, Doxo군 및 SKWJ군에 비해 각각 유의성있게 증가하였다(Table 9).

Table 7. Changes of relative tumor weight and inhibition rate after doxorubicin, *Soonkiwhajungtang* and their concomitant treatment in Colon-26-implanted Mouse Model

Group ID	Relative weight ^{a)}	Inhibition rate ^{b)}
Control	7.71 ± 2.32	Not Calculated
Doxo	3.02 ± 0.49**	57.52 ± 16.02
SKWJ	7.57 ± 2.54##	-3.34 ± 38.25##
Mix50	1.88 ± 0.28**,\$\$, \$\$	73.44 ± 10.26\$\$
Mix100	1.27 ± 0.18**,\$\$, \$\$	82.42 ± 4.63##,\$\$, \$\$

Values are Mean±SD (%), a) Relative tumor weights (%) = (wet tumor weight/body weight at sacrifice) × 100, b) Inhibition rate (%) = {1 - (tumor relative weight of test material treated-groups / tumor relative weight of control)} × 100, * : p<0.05 compared to that of Control, ** : p<0.01 compared to that of Control, # : p<0.05 compared to that of Doxo, ## : p<0.01 compared to that of Doxo, \$: p<0.05 compared to that of SKWJ, \$\$: p<0.01 compared to that of SKWJ

9. 임피구수의 변화

Colon-26을 이식한 대조군, Doxo군, SKWJ군, Mix50군, Mix100군에서의 도말표본 단위 mm² 당 출현하는 임피구의 총수는 Doxo군에서는 대조군에 비해 유의성있는 감소를 나타내었으나, SKWJ군에서는 대조군 및 Doxo군에 비해 유의성있게 증가하였다. Mix50군과 Mix100군에서는 대조군, Doxo군 및 SKWJ군에 비해 각각 유의성있게 증가하였다(Table 9).

IV. 考 察

암은 현대의학의 발전에도 불구하고 아직도 그 원인이 명확히 밝혀지지 않은 바가 많다. 최근 첨단진단기기와 수술, 방사선 치료, 항암요법, 면역치료 등의 지속적인 발전에도 대부분의 치료는 아직 기대할 만한 수준에 이르지 못하고 있는 실정이다. 이러한 항암치료 중 항암화학요법은 암세포에게만 선택적으로 작용하는 것이 아니라 정상세포에까지 독성을 나타내어 종양세포를 억제하는 동시에 골수 조혈기능을 억제하고 소화기관 및 전신에 반응하여 체중감소, 식욕부진, 탈모, 기타 약물로 인한 독성 부작용이 발생하게 된다^{6,19}.

Doxorubicin은 암종의 거의 모든 임상 화학요법에 포함되는 약물로 알려져 있다²⁴. 그러나 심장독성 (cardiotoxicity)을 비롯한 전신의 심한 독성을 나타내어, 그 임상적 사용이 제한되고 있다²⁰. 따라서 그 부

Table 8. Changes of tumor volume and inhibition rate after doxorubicin, *Soonkiwhajungtang* and their concomitant treatment in Colon-26- implanted Mouse Model

Group ID	Tumor volume (mm ³) ^{a)}	Inhibition rate ^{b)}
Control	1579.25 ± 304.93	Not Calculated
Doxo	994.12 ± 112.24**	35.19 ± 14.61
SKWJ	1639.59 ± 409.35##	-9.33 ± 40.94
Mix50	650.17 ± 93.55**,\$\$, \$\$	58.37 ± 5.32#,\$\$, \$\$
Mix100	442.39 ± 98.45**,\$\$, \$\$	71.20 ± 8.25##,\$\$, \$\$

Values are Mean±SD (mm³ or %), a) : Wet tumor volume (mm³) = 1/2 × a × b² [a : long axis (mm); b: short axis (mm)]. b) : Inhibition rate (%) = {1 - (tumor wet volume of test material treated-groups / tumor wet volume of control)} × 100, * : p<0.05 compared to that of Control, ** : p<0.01 compared to that of Control, # : p<0.05 compared to that of Doxo, ## : p<0.01 compared to that of Doxo, \$: p<0.05 compared to that of SKWJ, \$\$: p<0.01 compared to that of SKWJ

작용을 감소시키기 위한 겸용치료법에 대한 연구가 계속해서 진행 중에 있다²³.

암의 한의학적 발생원인으로는 外感邪氣와 七情內傷의 영향으로 臟腑, 陰陽, 氣血의 機能이 失調하여 痰飲, 濕聚, 氣滯, 血瘀, 熱毒蘊蓄 등의 病理機轉을 일으키기 때문으로 보고 있으며, 治法은 扶正培本法, 攻邪法, 그리고 이 두 가지 방법을 동시에 사용하는 扶正祛邪法으로 요약할 수 있다^{6,8}.

扶正培本法은 개체의 면역기능을 개선하고 骨髓機能과 血液狀 및 內分泌 體液調節, 물질대사, 해독능력 등을 개선, 증강시키며, 종양에 대해서도 면역기능이 있어 암의 발생과 성장을 억제하고 개체건강의 회복을 촉진시키며, 방사선 및 화학요법의 부작용을 감소시킨다²⁴. 攻邪法은 清熱解毒과 活血化瘀로 대별되며 병독억제와 개체의 비특이적 면역능력을 증강시키고 결합조직대사나 미세순환을 개선하며 혈액순환의 조절작용을 하고 세망내피세포의 탐식능력을 증강시키고 암에 속발하는 감염을 치료하며 종양세포에 직접 일정한 작용을 하는 것으로 알려져 있다²⁷.

《素問·刺法論》²⁸에서는 “正氣存內 邪不可干”이라 하였고 《素問·評熱病論》²⁸에서는 “邪氣所湊 其氣必虛”라 하여 人體의 抗病능력에 결정적인 요소가 正氣임을 강조하였으며, 암의 病因과 治療에 대해서는 李²⁹가 “積之成者 正氣不足 以後邪氣踞之”라 하였고, 張³⁰은 “凡脾胃不足及 虛弱失調之人 多有積聚之病”이라 하였으며, 羅³¹는 “養正則積自除”이라 하여 모두

Table 9. Changes of tumor volume and inhibition rate after doxorubicin, *Soonkiwhajungtang* and their concomitant treatment in Colon-26- implanted Mouse Model

Group ID	Total WBC number ^{a)}	Lymphocyte number ^{a)}
Control	4.80 ± 1.48	11.20 ± 1.79
Doxo	1.72 ± 0.94*	6.00 ± 1.00**
SKWJ	6.80 ± 0.84*.,##	15.00 ± 2.55*.,##
Mix50	8.40 ± 1.14*.,##,\$	19.00 ± 2.12*.,##,\$
Mix100	9.80 ± 1.64*.,##,\$	21.60 ± 2.30*.,##,\$

Values are Mean±SD, a) : Total white blood cell number (×103/mm³), b) : Number of lymphocytes in 1mm² of blood smear samples, * : p<0.05 compared to that of Control, ** : p<0.01 compared to that of Control, # : p<0.05 compared to that of Doxo, ## : p<0.01 compared to that of Doxo, \$: p<0.05 compared to that of SKWJ, \$\$: p<0.01 compared to that of SKWJ

正氣를 중요시하였다.

順氣和中湯은 陳皮, 香附子, 梔子, 白茯苓, 半夏, 白朮, 黃連, 枳實, 神曲, 砂仁, 甘草 및 生薑 등 12 종의 한약재로 구성된 처방으로, 白朮, 白茯苓, 甘草는 健脾益氣和中하고, 半夏, 陳皮, 生薑은 化痰燥濕和胃하며, 黃連, 梔子是 清熱瀉火하고, 香附子, 枳實, 神曲, 砂仁은 行氣理氣和胃하는 효능이 있으므로³², 扶正祛邪에 해당하는 처방으로 사료된다.

또한 順氣和中湯은《萬病回春》¹³과《東醫寶鑑》¹⁴에 噎膈 反胃의 치료방으로 제시되어 嘔吐, 反胃, 嘈雜, 吞酸, 噎膈, 吐痰水, 心腹刺痛 등의 제반 소화기 증상을 치료한다고 하였는데, 황 등³³과 윤 등³⁴은 噎膈 反胃의 대체적인 증상인 飲食不下, 惡心, 消化不良, 膈塞不通, 胸滿, 胃脘痛, 便秘 또는 泄瀉, 形瘦 등이 위암에서 나타나는 체중감소, 식욕부진, 소화불량, 食後 心下膨滿感, 복부불쾌감, 衰弱, 閉塞, 설사, 구토, 딸꾹질 등의 자각증상과 유사하며, 噎膈 反胃에서 병소를 三焦로 구분하여 나타나는 증상의 차이는 위암의 부위 및 전이에 의한 증상의 차이로 볼 수 있다고 하여, 噎膈 反胃와 위암과의 연관성을 제시한 바 있다.

그러나 順氣和中湯에 관한 연구는 indomethacin으로 위궤양을 유발시킨 흰쥐에서 順氣和中湯이 궤양의 예방에 유용하다고 한 김 등¹⁵의 보고 이외에는 거의 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 順氣和中湯 추출물 자체의 항암효과를 평가하고, doxorubicin과 順氣和中湯의 병용효과를 관찰하기 위하여 대장암(Colon-26,

Murine Rectum Carcinoma)에 대한 한 M-TT(Microculture Tetrazolium test)를 In Vitro 적인 방법으로 평가하고, 동시에 종양 세포주를 누드 마우스에 이식한 모델에서 In Vivo 적인 방법을 통해 평가하고자 하였다.

Colon-26은 BALB/c 마우스에서 유래된 직장 carcinoma cell로서 3LL과 함께 항암제 약효 시험에 널리 사용되는 설치류 유래의 세포주 중의 하나로³⁵ doxorubicin은 colon-26에 대하여 강력한 항암효과를 보인다^{36,7}. 본 연구에서도 doxorubicin 단독 투여군에서 강한 성장 억제 효과가 MTT 방법으로 입증되어 이전의 보고들^{36,7}과 유사하게 관찰되었으나, 順氣和中湯 추출물을 단독 투여한 군에서는 성장 억제 효과가 인정되지 않았다. doxorubicin과 順氣和中湯 추출물을 병용 처리한 경우, 병용 처리한 順氣和中湯 추출물의 용량 의존성으로 doxorubicin의 항암효과가 유의성있게 증가되는 것으로 관찰되었다.

일반적으로 종양이 존재할 경우 현저한 식욕부진과 함께 탈수 증상이 수반되며, 이로 인한 만성적인 체중감소가 초래되므로, 종양을 만성 악액질성 질환으로 분류할 수 있다¹⁸. 본 연구의 결과, 종양 이식 후 체중 감소가 대조군과 doxorubicin 단독 투여군에서 관찰되었으며, 이러한 체중 감소와 함께 운동실조, 탈수 및 식욕부진 소견이 인정되었다. 그러나 이러한 체중 및 임상증상의 정도가 順氣和中湯 추출물 투여군에서는 대조군 및 doxorubicin 단독 투여군에 비해 유의성있게 경감되어 順氣和中湯 추출물이 Colon-26 세포의 이식에 의해 초래되는 체중의 감소 및 임상증상을 경감시키는 것으로 관찰되었다. 사료 섭취량 역시 順氣和中湯 추출물 투여에 의해서 유의성있게 증가되는 것으로 관찰되어 종양 세포의 이식에 따른 체중 감소가 억제되었을 것으로 생각된다. 그러나 이러한 일련의 변화들이 doxorubicin 투여군에서는 관찰되지 않았다. Doxorubicin과 順氣和中湯 추출물 병용 투여군에서는 체중 변화, 사료 섭취량의 변화 및 임상증상들이 병용한 順氣和中湯 추출물의 용량 의존성으로 경감되었다.

Colon-26 세포를 이식한 동물모델에서도

doxorubicin은 비교적 강력한의 성장억제 효과가 인정되는데^{36,38-9}, 본 연구에서도 이전의 보고들^{36,38-9}과 유사하게 doxorubicin의 강한 항암효과가 Colon-26을 이식한 모델에서 확인되었으나, 順氣和中湯 투여군에서는 종양 체적, 중량 및 억제율에서 대조군에 비해 효과가 인정되지 않았다. doxorubicin과 順氣和中湯 추출물을 병용 처리한 경우, 병용 처리한 順氣和中湯 추출물의 용량 의존성으로 종양 중량과 체적이 유의성있게 감소되고, 각각의 억제율도 유의하게 증가되는 것으로 관찰되었다.

일반적으로 종양이 존재할 경우 백혈구의 수는 감소되는 것으로 알려져 있으며³⁸, 특히 doxorubicin과 같은 항암제 치료 시 더욱 감소되는 것으로 알려져 있다⁴⁰. 본 연구에서도 이전의 보고들^{18,40}과 유사하게 doxorubicin 단독 투여군에서는 백혈구 및 임파구의 감소가 초래되었다. 그러나 順氣和中湯 추출물 투여군에서는 종양을 이식한 모든 모델에서 대조군에 비해 유의성있는 백혈구 및 임파구의 증가가 관찰되어, 順氣和中湯 자체가 종양 이식에 따른 골수억압 현상을 경감시키는 것으로 관찰되었으며, 특히 doxorubicin과 병용 투여군에서는 투여한 順氣和中湯 추출물 용량 의존성으로 총 백혈구 및 임파구의 증가가 관찰되어, doxorubicin에 의한 백혈구 감소증이 경감되는 것으로 관찰되었다.

이상의 결과를 종합해 보면, 順氣和中湯 추출물 자체의 항암효과는 거의 없으나, 順氣和中湯 추출물 투여에 의해 종양 시 초래되는 악액질성 증상의 경감, 백혈구수의 증가와 같은 면역력 증가 효과는 인정되어 doxorubicin에 의해 초래되는 독성을 경감시키고, doxorubicin과 順氣和中湯의 병용 투여 시에는 항암효과 역시 증대되는 것으로 관찰되었다.

V. 結論

順氣和中湯 추출물 자체의 항암효과를 평가하고, doxorubicin과 順氣和中湯의 병용효과를 관찰하기 위하여, 대장암(Colon-26, Murine Rectum Carcinoma)에 대한 항암효과를 *In Vitro* 및 *In Vivo* 적인 방법을

통해 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. IC, IC50 및 IC90의 측정 결과, doxorubicin은 Colon-26 세포주에 대하여 강한 성장 억제효과를 나타내었으나, 順氣和中湯 추출물은 미약한 성장 억제효과를 나타내었다. 병용 처리군에서는 順氣和中湯 추출물의 용량 의존성으로 doxorubicin의 성장 억제효과가 증가되었다.
2. 암세포주 이식 마우스 모델에서 체중, 증체량 및 사료섭취량은 일부기간을 제외하고 doxorubicin 투여군에서는 대조군에 비해 유의성있게 감소되었고, 順氣和中湯 투여군에서는 대조군 및 doxorubicin 투여군에 비해 유의성있게 증가되었으며, 병용투여군에서는 順氣和中湯의 용량 의존성으로 유의성있게 증가되었다.
3. 암세포주 이식 후 운동실조, 탈수 및 식욕부진과 같은 악액질성 임상 증상이 모든 실험군에서 관찰되었으나, 이러한 증상을 나타내는 동물의 수 및 정도는 병용 투여군, 順氣和中湯 투여군, doxorubicin 투여군 순으로 경감되었으며, 특히 병용 투여군에서는 順氣和中湯 추출물의 용량 의존성으로 경감되었다.
4. 암세포주 이식 마우스 모델에서 doxorubicin 투여군은 대조군에 비해 종양의 중량과 체적은 유의성있게 감소되었고 종양 억제율은 증가되었으나, 順氣和中湯 투여군에서는 대조군과 유사한 수치를 나타내었다. 병용 처리군에서는 順氣和中湯 추출물의 용량 의존성으로 유의성있는 종양 중량 및 체적의 감소와 이들에 대한 억제율의 증가가 관찰되었다.
5. 총 백혈구수와 임파구수의 경우, doxorubicin 처리군에서는 대조군에 비해 유의성있는 감소가 관찰된 반면, 順氣和中湯 투여군에서는 대조군 및 doxorubicin 투여군에 비해 유의성있는 증가가 인정되었다. 병용 처리군에서는 順氣和中湯 추출물의 용량 의존성으로 유의성있는 총 백혈구수와 임파구수의 증가가 관찰되었다.

參考文獻

1. 安敦姬. 암등록 사업과 암으로 인한 사망-연도별 추이. 대한의학협회지. 1993;36(3):292-9.
2. 공현식, 유봉하, 박동원, 유기원. 韓國韓醫學의 腫瘍研究에 對한 現況. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995;1(1):55-81.
3. Sun X, Zhou Z, Kang YJ. Attenuation of doxorubicin chronic toxicity in metallothionein-overexpressing transgenic mouse heart. Cancer Res. 2001;61(8):3382-7.
4. Ranson MR, Cheeseman S, White S, Margison J. Caelyx (stealth liposomal doxorubicin) in the treatment of advanced breast cancer. Crit Rev Oncol Hematol. 2001;37(2):115-20.
5. 田炳旭. 少陰人補中益氣湯과 瓦松이 抗癌 및 免疫反應에 미치는 影響. 慶熙大學校 大學院. 1995.
6. 金東熙, 金聖勳. 抗癌劑 및 放射線 副作用에 대한 韓方療法. 동의병리학회지. 1994;9(1):239-63.
7. 金東熙, 金聖勳. 포공영 분획의 간암세포에 대한 항암활성과 항암제와의 병용투여효과. 大韓韓醫學會誌. 1995;16(2):386-413.
8. 문병하, 문구, 문석재. 痞氣丸이 항종양 면역반응에 미치는 영향. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995;1(1):231.
9. 王會玲. 中醫藥對腫瘤補助治療的進展. 陝西中醫. 1994;15(4):187-9.
10. 임락철 외. 종양의 화학요법과 방사선요법의 부작용에 대한 한방약물요법. 동의병리학회지. 1995;10(2):76-7.
11. 楊寶仁. 癌症的中藥治療. 1. 河北:河北科學技術出版社; 1992, p.4-24.
12. 임성우. 한약을 이용한 항암 실험 연구의 경향과 연구 방향. 대한한방내과학회지. 2001;22(1):73-8.
13. 龔廷賢. 國醫 萬病回春. 서울:계축문화사; 1984, p.302-3.
14. 許浚. 東醫寶鑑. 4. 서울:대성문화사; 1992, p.172,176-7,179.
15. 김상찬, 이동언, 권영규. 順氣和中湯이 indomethacin으로 유발된 위궤양에 미치는 영향. 동의생리병리학회지. 2003;17(2):326-37.
16. 李哉熙. 圖說漢方診療要方. 서울:의학연구사; 1976, p.461.
17. Masse A, Ramirez LH, Bindoula G, Grillon C, Wdzieczak-Bakala J, Raddassi K, Deschamps de Paillette E, Mencia-Huerta JM, Koscielny S, Potier P, Sainteny F, Carde P. The tetrapeptide acetyl-N-Ser-Asp-Lys-Pro (Goralatide) protects from doxorubicin-induced toxicity: improvement in mice survival and protection of bone marrow stem cells and progenitors. Blood. 1998;91(2):441-9.
18. Sodikoff CH. Laboratory profiles of small animal diseases. A guide to laboratory diagnosis. 2nd ed. St. Louis: Mosby-Year Book Inc. 1995.
19. 金光湖, 南喆鉉, 李起男, 李仙童, 蘇敬順, 康拆林 등. 豫防醫學과 保健學. 2. 서울:癸丑文化社; 1998, p.329.
20. Duncan R, Coatsworth JK, Burtles S. Preclinical toxicology of a novel polymeric antitumour agent: HEMA copolymer- doxorubicin (PK1). Hum Exp Toxicol. 1998;17(2):93-104.
21. 문구, 정병학, 김병주. 암, 동서의학결합치료2. 익산:원광대학교출판부; 1998, p.233-4.
22. 장희일. 半邊蓮과 항암제의 B16-F0 melanoma cell에 대한 항종양효과. 大田大學校 大學院. 1994.
23. 이준용. 抗癌生血湯이 Metaotrexate로 유발된 부작용과 면역기능 저하에 미치는 영향. 大田大學校 大學院. 1997.
24. 郁仁存. 中醫腫瘍學(上). 北京:科學出版社; 1983, p.120-39.
25. 金玲 외. 종양환자의 증형과 증형연구의 재고찰. 한글판 중의잡지. 1993;2:76.
26. 劉正才, 尤煥文. 中醫免疫. 四川:重慶出版社; 1993, p.113-5.
27. 方藥中 外. 實用中醫內科學. 上海:上海科學技術出版社; 1986, p.630-1.
28. 裘秉哲 注解. 黃帝內經讀解. 서울:성보사; 2000, p.168,388.
29. 李仲梓. 醫宗必讀. 上海:上海科學出版社; 1987, p.6,34,215.
30. 張介賓. 景岳全書. 서울:여강출판사; 1985, p.479,828.
31. 羅天益. 衛生寶鑑. 서울:금강출판사; 1981, p.220.
32. 辛民敦편저. 임상본초학. 서울:영림사; 1997, p.172,179,293,374,465,481,587,641,736.
33. 황규동, 류기원. 噎膈 反胃와 위암과의 상관성에 대한 문헌적 고찰. 大韓韓方腫瘍學會誌. 1995;1(1):129-40.
34. 윤성우, 류봉하, 박동원, 류기원. 위암의 동의학 및 동서의결합 치료에 관한 문헌적 고찰. 大韓韓方腫瘍學

- 會誌. 1996;2(1):177-91.
35. Naoe Y, Kawamura I, Inami M, Matsumoto S, Nishigaki F, Tsujimoto S, Manda T, Shimomura K. Anti-cachectic effect of FK317, a novel anti-cancer agent, in colon26 and LX-1 models in mice. *Jpn J Cancer Res.* 1998;89(12):1318-25.
 36. Lee CW, Hong DH, Han SB, Jung SH, Kim HC, Fine RL, Lee SH, Kim HM. A novel stereo-selective sulfonyleurea, 1-[1-(4-aminobenzoyl)-2,3-dihydro-1H-indol-6-sulfonyl]-4-phenyl-imidazolidin-2-one, has antitumor efficacy in *in vitro* and *in vivo* tumor models. *Biochem Pharmacol.* 2002;64(3):473-80.
 37. Yoshida M, Maehara Y, Sugimachi K. MST-16, a novel bis-dioxopiperazine anticancer agent, ameliorates doxorubicin-induced acute toxicity while maintaining antitumor efficacy. *Clin Cancer Res.* 1999;5(12):4295-300.
 38. Hattori K, Matsushita R, Kimura K, Abe Y, Nakashima E. Synergistic effect of indomethacin with adriamycin and cisplatin on tumor growth. *Biol Pharm Bull.* 2001;24(10):1214-7.
 39. Unezaki S, Maruyama K, Ishida O, Takahashi N, Iwatsuru M. Enhanced tumor targeting of doxorubicin by ganglioside GM1-bearing long-circulating liposomes. *J Drug Target.* 1993;1(4):287-92.
 40. Sheng Y, Pero RW, Wagner H. Treatment of chemotherapy-induced leukopenia in a rat model with aqueous extract from *Uncaria tomentosa*. *Phytomedicine.* 2000;7(2):137-43.